

气相色谱-质谱法同时检测鳗鱼中克螨特、禾草丹、呋线威残留*

卢声宇¹, 李捷, 刘正才, 杨方, 余孔捷

(福建出入境检验检疫局技术中心, 福建福州, 350001)

摘 要 研究并建立了鳗鱼中克螨特、禾草丹、呋线威残留量的气相质谱的多残留同时检测方法。鳗鱼样品经乙酸乙酯提取后, 氮吹浓缩有机溶剂后, 残油用丙酮溶解后用乙腈反提, 反提液经弗罗里硅土和中性氧化铝混合 SPE 小柱净化后, GC-MS 测定。此方法应用微量液液分配结合 SPE 净化方法能很好地去除鳗鱼基质中大量的油脂及其他干扰物, 操作简便快速, 成本低, 易于推广。禾草丹, 克螨特, 呋线威在鳗鱼中添加水平为 0.01~0.1 mg/kg 时, 回收率范围分别为 70.7%~102.2%, 80.0%~103.6%, 68.0%~92.6%, RSD 范围 7.4%~15.4%, 检测限分别为 0.000 69、0.009 2、0.007 5 mg/kg, 符合残留分析的要求。

关键词 鳗鱼, 气相色谱-质谱, 农药残留, 克螨特, 禾草丹, 呋线威

克螨特又名炔螨特, 英文通用名为 propargite, 是一种低毒广谱性杀螨剂, 具胃毒和触杀作用, 无内吸作用, 在水产养殖中作为抗寄生虫药在渔药复配剂中经常使用。呋线威是克百威的低毒化品种, 又名呋喃硫威, 通用名 furathiocarb, 具有触杀、胃毒及内吸作用, 呋线威的杀虫谱、用量和成本与现有克百威相似, 但其毒性为克百威的 1/12, 是最有前途的克百威替代品。禾草丹是硫代氨基甲酸酯类除草剂, 此类除草剂主要作土壤处理剂, 在播前或播后苗前施用。禾草丹挥发性强, 为了保证药效, 旱地施用后需混土, 故土壤中残留比较严重。除克螨特外, 呋线威和禾草丹都未有直接用于水产品或动物源性产品的报道, 但可能由于存在间接污染的途径, 日本于 2007 年 4 月发布实施的 2007 年进口食品监控计划中, 将禾草丹和呋线威都列为水产品中农药残留的监控项目, 但并没有公布相关的检测方法。近年来有关这 3 种农药残留测定方法的报道主要是集中在植物性食品, 水或动物内脏^[1~3], 但对类似鳗鱼这样存在大量的油脂干扰的水产品, 既没有标准方法也没有高效且低成本的检测方法。我国鳗鱼的主要出口国是日本, 从食品安全和保障出口角度, 研究并建立一种全新的多残留检测方法有重要意义。

1 实验部分

1.1 仪器与试剂

第一作者: 硕士, 工程师。

* 福建省科技攻关重点项目 (No. 2006Y0002)

收稿日期: 2007-10-29, 改回日期: 2008-02-15

Agilent 6890N 气相色谱仪 (配 5973i 质谱检测器); 氮吹浓缩仪 (HGC-12A); 旋涡混合器 (XW-80A); 低速离心机 (AnkeTDL-5A); 搅肉机 (PHILP-SHR2864)。

克螨特, 呋线威, 禾草丹 (均购自上海安谱科学仪器公司) 分别准确称取 0.10 g 上述标准品, 用丙酮溶解并定容 100 mL, 配成 1 000 mg/L 的标准储备液, 此标准储备液在 4℃ 下可保存 6 个月; 根据实际需要将储备液, 梯度稀释成不同浓度的标准工作溶液。

乙酸乙酯、丙酮、乙腈、中性氧化铝为分析纯 (550℃ 高温活化), 水为去离子水, 未标明纯度的化学试剂均为优级纯以上试剂。

SPE 小柱: 弗罗里硅土填料, 0.5 g 3 mL (supelco)。

1.2 样品的前处理

称 5.00 g 鳗鱼样品, 加入乙酸乙酯溶剂萃取 3 次, 每次 5 mL, 合并萃取液于试管中, 用氮吹仪吹干溶剂, 在剩下粘稠的油状物中加入 1 mL 丙酮溶解混匀后, 用乙腈旋涡混匀反提 1 min, 重复反提 2 次, 每次 2 mL, 合并上层有机溶剂并移至 1 新试管中, 氮吹浓缩至小于 1 mL, 净化。

弗罗里硅土 SPE 小柱上层加入 0.5 g 中性氧化铝构成混合 SPE 柱, 用 3 mL 乙腈活化, 加入乙腈反提液, 弃去, 再加入 4 mL 乙腈洗脱, 收集洗脱液氮吹至近干, 用正己烷定容至 1 mL, GC-MS 分析。

1.3 测定条件

色谱条件: 色谱柱 BD5MS (30 m × 0.25 mm × 0.25 μm), 温度: 初始温度为 80℃, 按 15℃/min 升温至 180℃, 保持 3.0 min, 以 20℃/min 升温至 270℃, 保持 3 min; 进样口温度: 220℃; 检测器温度: 300℃;

氮气:纯度≥99.999%,流速 1.6mL/min(恒压模式),进样量 1μL。

质谱条件:传送线温度 280℃,离子源温度 300℃,ESI 电压 70eV,SIM 方式,以表 1 中的定量离子用外标法定量,以保留时间、定性离子及各离子间的相对丰度比定性。

表 1 三种农药的保留时间、定性定量离子及相对丰度比

农药名称	保留时间/min	定量离子	定性离子 1	定性离子 2	定性离子 3
禾草丹	13.45	100(100*)	72(45)	125(22)	257(16)
克螨特 I	19.27	135(100)	173(30)	201(6)	350(10)
克螨特 II	19.33	135(100)	173(28)	201(12)	350(9)
呋线威	21.22	163(100)	135(29)	194(24)	325(10)

注:* 括号中数值为各离子的相对丰度比。

2 结果与分析

2.1 净化条件的选择

关于克螨特、呋线威、禾草丹 3 种农药残留测定方法的净化条件主要是针对色素,蛋白质^[1~3],而鳊鱼则是一种比较特殊的食品基质,基体中含有大量的油脂,约占 30%左右,因此有效去除鳊鱼基体中的油脂是净化的难点,也鲜有文献报道。在农药残留分析中,净化油脂杂质的主要手段有固相萃取法、凝胶渗透法、液液分配、柱层析法、低温沉淀法和皂化、酸消化法等^[4]。其中,皂化、酸消化法由于对农药结构有特定的要求,不适合克螨特,禾草丹,呋线威等农药残留的净化;而低温沉淀法和凝胶渗透法对仪器有特定的要求,不易于推广使用。而固相萃取法由于样品负载量小,对于含大量油脂样品难以达到净化要求,液液分配则需要消耗大量的试剂费时费工且回收率不高。

综合上述方法的研究,本实验采取微量液液分配

表 3 三种农药的回收率试验结果及精密度(n=6)

农药名	添加水平 0.01 mg/kg		添加水平 0.05 mg/kg		添加水平 0.1mg/kg	
	回收率/%	RSD/%	回收率/%	RSD/%	回收率/%	RSD/%
禾草丹	73.9~102.2	11.6	70.7~95.1	8.0	76.7~97.5	8.5
克螨特(I+II)	80.0~93.0	8.90	88.2~103.6	9.6	85.4~93.7	7.4
呋线威	68.0~84.0	15.4	70.0~88.2	13.2	75.2~92.6	9.8

3 结论

本方法应用微量液液分配结合 SPE 净化方法有效提高了净化效果,在保证回收率的前提下很好地去除鳊鱼基质中大量的油脂及其他干扰物。实验中应

结合固相萃取法进行样品的净化方法,先将提取液浓缩后用少量溶剂进行液液分配,再用固相萃取法进行经分离净化。从实验中发现,提取液浓缩后剩余的残油如果直接用乙腈反提,只有克螨特的回收率能在 80%以上,呋线威和禾草丹的回收率都少于 50%,但将残油用丙酮溶解后再用乙腈反提,则 3 种农药的反提回收率均在 90%以上,而且有效的去除了鳊鱼中大部分的油脂,然后再用固相萃取法净化残留的油脂,这样即提高了液液分配的效率,大大减少了有机溶剂的使用量,也解决了固相萃取柱可承载的杂质质量太小的矛盾。

2.2 分析方法的线性相关性及检测限

以被测物质定量离子的信噪比 S/N≥3 计算,禾草丹、克螨特、呋线威的最低检测限分别为 0.000 69、0.009 2、0.007 5 mg/kg。3 种农药进样浓度在 0.02~1 mg/L 内,响应值与浓度呈良好的线性关系。3 种物质的线性方程及相关系数见表 2(其中 A 为离子丰度,C 为浓度)。其中克螨特离子丰度以 2 种异构体的总和计算。

表 2 三种农药标准曲线的线性关系和相关系数

农药名称	线性回归方程	相关系数(r)
禾草丹	A=53486.35C+833.62	0.999 9
克螨特(I+II)	A=8769.54C+375.80	0.999 6
呋线威	A=10078.63C+526.32	0.999 8

2.3 回收率及精密度试验

准确称取粉碎均匀的阴性鳊鱼样品于 50 mL 具塞离心管中,分别添加 0.01、0.05、0.1 mg/kg 的含量水平,制成阳性样品,混匀后于通风橱中挥干有机溶剂,再按样品前理方法处理,每个添加水平做 6 平行样,结果见表 3。在 3 个不同添加水平的 3 种农药的回收率范围为 68.0%~103.6%。

用微量液液分配结合固相萃取法处理鳊鱼样品,将鳊鱼提取液浓缩后,先用丙酮溶解残油再用乙腈反提,然后用弗罗里硅土和中性氧化铝复合 SPE 柱净化,用 GC-MS 测定,操作简便快捷,成本低,易于推广,方法可行,3 种农药在鳊鱼中的添加水平为 0.01~

0.1 mg/kg 时,回收率范围分别为禾草丹 70.7%~102.2%,克螨特 80.0%~103.6%,呋线威 68.0%~92.6%,检测限分别为 0.000 69、0.009 2、0.007 5 mg/kg,RSD 范围 7.4%~15.4%,符合残留分析要求。

参 考 文 献

- 1 Tatsuhiko Kawamoto, Nobuko Makihata. Development of a simultaneous analysis method for carbofuran and Its three derivative pesticides in water by GC/MS with temperature programmable inlet On-column Injection [J]. Analytical Sciences, 2003, 19: 1 605~1 610
- 2 Liu K H, Byoun J Y, Lee H K, et al. Simultaneous determination of furathiocarb and metabolites in biological tissues by high-performance Liquid chromatography and post-Column derivatization [J]. Chromatographia, 2001, 53: 687~690
- 3 Alice M. Au, Wallace D. Fung. Rapid Technique for thio-bencarb residue determination in rice sample[J]. Bulletin of Environmental Contamination and Toxicology, 1988, 40: 655~659
- 4 刘伊玲, 逯忠斌, 徐 威. 农药残留分析中含油脂及硫化物样品的净化方法[J]. 农药科学与管理, 2000, 21(1): 17~20

Simultaneous Determination of Thiobencarb, Propargite and Furathiocarb Residues in eel by GC-MS

Lu Shengyu, Li Jie, Liu Zhengcai, Yang Fang, Yu Kongjie

(Fujian Entry-exit Inspection and Quarantine Bureau, Fuzhou 350001, China)

ABSTRACT A rapid method to determine simultaneously pesticide the residues of thiobencarb, propargite and furathiocarb in eel was developed. The method consisted of extraction of samples with ethyl acetate, concentrated by nitrogen-blow, micro-partition, purified through a florisil and alumina neutral gel SPE column and determination by GC-MS. When the concentration was 0.01~0.1 mg/kg, the recoveries was from 70.7%~102.2%. 80.0%~103.6%, 68.0%~92.6% and the relative standard deviations ranged from 7.4%~15.4% ($n=6$), the detection limitation were 0.00069 mg/kg, 0.0092 mg/kg, 0.0075 mg/kg for thiobencarb, propargite and furathiocarb respectively. Reasonable recoveries for routine analysis were obtained.

Key words eel, GC-MS, pesticide residues, propargite thiobencarb, furathiocarb

(上接第 127 页)

A New Method for Activity Assay of ϵ -poly-L-Lys-degrading Enzyme

Zhao Ying, Jia Shiru, Tan Zhilei, Yuan Guodong

(Tianjin University of Science and Technology, Tianjin Key Laboratory of Industry Microbiology, Tianjin 300457, China)

ABSTRACT A new method that is based on the methyl orange (MeO) method for measuring the amount of ϵ -poly-L-Lys has been developed to present the activities of ϵ -poly-L-Lys-degrading enzyme. Experiments were conducted to determine the optimal reaction conditions such as temperature, incubation time, substrate concentration and buffer system. The result measured by the new method was proved to be precise. This study provided a safe and convenient method for research of ϵ -poly-L-Lys-degrading enzyme.

Key words ϵ -poly-L-Lys-degrading enzyme, enzyme activity, MeO method